云 南 植 物 研 究 1996; **18** (1): 87～92
Acta Botanica Yunnanica

花生受精前后胚囊的超微结构研究

邢树平 席湘媛
(山东农业大学基础部，泰安 271018)

摘要 开花后 1～8 h，卵细胞合点端无壁，其质膜和中央细胞质膜之间有较宽间隙，两质膜均有间断处。细胞质主要分布在合点端，细胞器呈不活跃状态。一个助细胞合点端具不连续的壁，与卵细胞和中央细胞之"间隙"无直接联系；另一助细胞合点端仅有质膜，并通过质膜间断处与卵细胞和中央细胞之间的"间隙"相通。中央细胞珠孔端和合点端有壁内突，极核或次生核及大部分细胞质靠近卵器，内有大量淀粉粒。开花后 21 h，双受精已完成。合子合点端壁由不连续到连续，细胞器丰富。退化助细胞合点端壁不连续，与合子间的壁某些部位很薄或间断；宿存助细胞合点端壁以及与合子间的壁亦不连续，丝状器仍发达。受精极核或次生核已分裂形成 2～4 个胚乳游离核，周围细胞质内仍有大量淀粉粒。

关键词 花生，胚囊，超微结构

AN ULTRASTRUCTURAL STUDY OF EMBRYO SAC IN ARACHIS HYPOGAEA BEFORE AND AFTER FERTILIZATION

XING Shu-Ping, XI Xiang-Yuan
(*Department of Botany, Agricultural University of Shandong,* Taian 271018)

Abstract After 1～8 h of anthesis, the egg cell has no wall at its chalazal end and a space is present between the plasma membranes of the egg cell and central cell which are discontinuous. The cytoplasm of the egg cell is mainly located at its chalazal portion in which the organelles are inactive. One synergid bears no complete wall at its chalazal end. The other has no wall and the plasma membrane is also discontinuous at its chalazal end which can connect with the "space" between the egg cell and central cell. Wall ingrowths appear at the micropylar and chalazal ends of the central cell. The polar nuclei or secondary nucleus and the surrounding cytoplasm in which many large starch grains are found are near the egg apparatus. At 21 h after anthesis, double fertilization is finished. The chalazal end wall of the zygote which contains abundant organelles changes from discontinuous to complete. The degenerated synergid has a discontinuous wall at its chalazal end and a thin or a discontinuous wall adjacent to the zygote in some places. The persistent synergid also has a discontinuous wall at its chalazal end and adjacent to the zygote, its filiform apparatus is still developed. 2～4 endosperm nuclei are formed and in their surrounding cytoplasm many large starch grains are still observed.

Key words *Arachis hypogaea,* Embryo sac, Ultrastructure

1995-01-16 收稿

在被子植物中，胚囊作为雌配子体，对其结构和功能的研究，日益受到重视。随着电镜技术的广泛应用，许多植物，特别是一些重要的农作物如小麦（You 等, 1985)、玉米（Diboll 等, 1966)、水稻（董健等,1989）和大豆（Folsom 等, 1984）等的胚囊都作过超微观察。花生作为一种重要的油料作物，其生殖生物学国内外均有一些研究（吴梅贞等，1988；Smith,1956; Xi,1991），但未见其胚囊超微结构方面的报道。本文利用透射电镜对花生受精前后胚囊内卵细胞、助细胞和中央细胞的结构进行了观察，并讨论了它们的细胞壁特点。

材料和方法

研究材料为海花1号，种植于山东农业大学校园内。盛花期取材，在开花后 1～30 h 内定期取子房，用 4%戊二醛固定后，再用 1%锇酸固定。乙醇系列脱水，Epon 812 树脂包埋。半薄切片定位后，在 LKB-7800 切片机上，用钻石刀切片。醋酸双氧铀-柠檬酸铅双染色，用 JEM-1200 透射电镜观察并照相。

观察结果

成熟胚囊有1个卵细胞、2个助细胞和1个中央细胞（含2个极核或1个次生核），反足细胞已退化。开花时已传粉，两助细胞均已出现退化现象。开花后 9 h，花粉管进入1个助细胞释放内容物。开花后 21 h，卵细胞已受精形成合子，仍见1个助细胞宿存。极核或次生核受精后已分裂形成 2～4 个胚乳游离核。下面分别描述受精前后胚囊各成员细胞的超微结构特征。

卵细胞

开花后 1～8 h，卵细胞近似梨形，近球孔端 1／3 的区域有完整的壁，其中一部分与胚囊壁共有（图版Ⅰ：1a)。与一助细胞间有较完整的壁（图版Ⅰ：2)；与另一助细胞之间壁不连续，某些部位仅有质膜（图版Ⅰ：1a，3）。合点端无壁，且有的部位质膜间断（图版Ⅰ：4）或质膜内陷成囊，囊内质膜亦有间断（图版Ⅰ：1a，1b），卵细胞质膜与中央细胞质膜之间有较大间隙，间隙部位的中央细胞质膜亦有间断（图版Ⅰ：4)。合点端细胞质多，内含许多质体和线粒体，部分质体中含电子密度深的淀粉粒。内质网管状，上有少量核糖体，多沿质膜和核膜分布，有些内质网较短，直接与外核膜相连（图版Ⅰ：4），未见高尔基体。细胞核位于合点端的细胞质内，球形或椭圆球形，有时内缢，核膜清晰，内有1个核仁。珠孔端含有1个大液泡和少量沿壁分布的细胞质，内含细胞器种类与合点端的相似，但质体少且不含淀粉粒（图版Ⅰ：3)。总的来看，卵细胞内细胞器呈不活跃状态，显示其合成代谢活动低落，这和水稻等一些植物（董健，1989；Kapil 等, 1981; Willemse 等, 1984）的观察结果一致。

开花后 21 h，卵细胞已受精形成合子，合子约有 6 h 间期。刚形成的合子，合点端已形成新壁，但厚薄不均，且不连续。细胞核位于合点端的细胞质内，珠孔端仍有1个较大液泡（图版Ⅱ：5)。细胞质内质体、线粒体、内质网和核糖体丰富，亦有少量高尔基体。质体中多含 1～2 个电子密度浅的淀粉粒。线粒体球形或椭圆球形。内质网管状弯曲，上有大量核糖体。高尔基体周围有一些小泡（图版Ⅱ：6)。合子发育后期，合点端形成完整的壁，某些部位仍见有来自合子细胞质和中央细胞质的大量小泡参与壁的形成（图版Ⅱ：7)。细胞器种类与合子早期基本相同，但内质网多呈叠堆状，质体中的淀粉粒边缘电子密度开始变深（图版Ⅱ：7)。珠孔端液泡变小。

助细胞

细胞质主要分布在珠孔端，合点端有1个大液泡。开花后 1～8 h，两个助细胞的细胞器多呈退化状态，看不出什么差异，但核仍清晰可见。珠孔端有较完整的细胞壁，且已形成了发达的丝状器（图版Ⅰ：

1a，2)。合点端两助细胞明显不同（连续切片说明），1 个助细胞有不连续的壁，与卵细胞合点端质膜和中央细胞质膜之间隙无直接联系（图版Ⅰ：2)；而另一助细胞合点端无壁，仅有质膜，且有的部位质膜间断。此助细胞合点端通过质膜间断处与卵细胞合点端质膜和中央细胞质膜之间隙相通（图版Ⅰ：1a，3)。两助细胞与卵细胞相邻壁的特点，在卵细胞描述中已说明，不再重复。

开花后 9 h，花粉管进入 1 个助细胞释放内容物，此助细胞为退化助细胞。另一助细胞暂时宿存，但宿存期较短，二细胞原胚期消失。图版Ⅱ：5 中退化助细胞含大量染色深的电子致密物，合点端壁不连续，与合子间某些部位的壁很薄、间断或仅以质膜相隔。宿存助细胞合点端壁不连续，与合子之间的壁亦有间断。细胞质贫乏，出现许多深色颗粒状物及液泡，亦见少量自体吞噬泡。核还存在，呈不规则形（图版Ⅱ：8a)。丝状器仍明显，附近有大量嵴较发达的线粒体（图版Ⅱ：8a，8b)，显示宿存助细胞仍具有从珠心冠和内珠被细胞中吸收营养的能力。

中央细胞

受精前珠孔端（图版Ⅰ：1a）和合点端有明显的壁内突。大部分体积为液泡占据，极核或次生核及大部分细胞质偏向珠孔端。细胞质内有大量线粒体和少量内质网及核糖体，未见高尔基体。线粒体球形或椭圆球形，内质网管状。极核或次生核周围有许多大的染色很深的淀粉粒（图版Ⅰ：1a，2)。受精后，初生胚乳核进行有丝分裂，不伴随胞质分裂。合子期，已形成 2～4 个胚乳游离核。此时中央细胞质内线粒体、内质网和核糖体丰富，亦有少量脂滴出现，但原来的大淀粉粒染色明显变浅，可能是被酶解利用之缘故（图版Ⅱ：5，6)。

讨　论

花生的卵细胞珠孔端有壁，而合点端无壁，仅有质膜，这是许多植物共有的特征（Diboll 等，1966；董健等，1989；Jensen，1956；Maze 等，1975；闫华等，1990；陈一明等，1988；王小兰等 1992；王春钢等，1992)。在向日葵（闫华等，1990）中，卵细胞合点端质膜与中央细胞质膜间有一间隙，内含电子致密物和小泡。在扁豆（陈一明等，1988）和蚕豆（王小兰等，1992）中，亦有某些间隙区，只是所含的物质有所不同。花生中，卵细胞合点端质膜与中央细胞质膜间亦有间隙，但范围较宽。两助细胞壁的情况也有不同：1 个助细胞合点端具不连续的壁，与卵细胞合点端质膜和中央细胞质膜之间隙无直接联系，与卵细胞间有较完整的细胞壁；另一助细胞与卵细胞之间壁不连续，此助细胞合点端无壁，仅以质膜与中央细胞相邻，某些区域质膜间断，助细胞合点端通过这些质膜间断处与卵细胞合点端质膜和中央细胞质膜之间隙相通。关于花生卵细胞和中央细胞之间的“间隙”，其可能的作用，同意闫华等(1990）的观点，即“间隙”区可能是精子到达受精靶区的通道。1 个助细胞合点端与“间隙”相通，推测这个助细胞可能是花粉管进入的那个助细胞。助细胞合点端与“间隙”相通，可能有利于进入该助细胞的精子通过“间隙”区而到达受精靶区。花生卵细胞合点端质膜有间断或内陷成囊，囊内质膜亦有间断，这是继绿豆（王春钢等，1992）后，发现卵细胞合点端质膜有间断的第二种植物。在绿豆中，发现卵细胞和中央细胞之间有几处二者的质膜不存在，王春钢等认为这些无质膜区域很可能是精子进入卵细胞和中央细胞的通路，本研究者亦同意这种观点。

受精后，合子合点端产生完整的细胞壁，也是许多植物（王春钢等，1992；Natesh 等，1984）共有的特征。但在向日葵中，合子进入分裂前仍没有形成完整的壁，闫华和杨弘远(1990)认为这是由于合子间期极短，壁的合成速率可能赶不上细胞周期的进度，有一段二者同步进行的时期。在花生中，刚形成的合子合点端壁不连续，合子分裂前则形成了完整的壁，以保证合子和胚乳各自的发育，与研究过的多数植物相同。

关于受精后助细胞壁的变化，Mogensen（1978）在 *Proboscidea louisianica* 和烟草（Mogensen 等，

1979）中报道，受精后退化助细胞和宿存助细胞均被完全壁包围，并推测花粉管释放的分泌小泡可能参与助细胞新壁的形成。在水稻（董健等，1989）中，也观察到受精后两个助细胞合点端均形成新壁的现象，在向日葵（闫华等，1990）中，只报道了宿存助细胞合点端形成新壁，而未说明退化助细胞的情况。花生与上述植物有所不同，退化助细胞合点端壁不连续，与合子相邻的壁在某些部位较薄或有间断，这有利花粉管释放的一些营养物质转运到中央细胞和合子中去；宿存助细胞珠孔端丝状器发达，且附近有大量嵴较发达的线粒体，仍能执行一定的吸收功能，其合点端以及与合子相邻的壁某些部位暂时保持不连续，也有利于宿存助细胞为合子和中央细胞提供养料。

卵细胞和助细胞在受精后，壁是如何建成？董健等（1989）在水稻及闫华等（1990）在向日葵中均认为涉及到卵细胞、助细胞和中央细胞三者之间的相互作用，而不限于卵细胞或助细胞本身，并援引前人报道的中央细胞贴近卵器处有平行排列的内质网现象，推测中央细胞可能参与卵器与中央细胞间壁的降解与重新建成。在花生中，合子新壁的建成确有来自合子和中央细胞质的小泡参与。退化助细胞和宿存助细胞的壁以后如何建成？未做连续观察，难以说明。

参 考 文 献

王小兰，王耀之，1992. 蚕豆成熟胚囊超微结构及 ATP 酶的定位. 植物学报，**34:** 862

王春钢，席湘媛，1992. 绿豆受精前后胚囊的结构及传递细胞的分布. 植物学报，**34:** 496

闫 华，杨弘远，1990. 向日葵胚囊的超微结构和“雌性生殖单位”问题. 植物学报，**32**(3): 165

陈一明，王伏雄，1988. 扁豆成熟胚囊的超微结构. 植物学报，**30:** 117

吴梅贞，席湘媛，1988. 花生的胚和胚乳的发育. 山东农业大学学报，**19**(2): 11

董 健，杨弘远，1989. 水稻胚囊超微结构的研究. 植物学报，**31**(2): 81

Diboll A G, Larson D A, 1966. An electron microscopic study of the mature megagametophyte in *Zea mays*. *Amer J Bot*, **53:** 391

Folsom M W, Peterson C M, 1984. Ultrastructural aspects of the mature embryo sac of soybean, *Glycine max* (L.) Merr. *Bot Gaz*, **145**(1):1

Jensen W A, 1956. The ultrastructure and composition of the egg and central cell of cotton. *Amer J Bot*, **52:** 781

Kapil R N, Bhatnagar A K, 1981. Ultrastructure and biology of female gametophte in flowering plants. *Inter Rev Cytol*, **70:** 291

Maze J, Lin S, 1975. A study of the mature megagametophyte of *Stipa elmeri*. *Can J Bot*, **53:** 2958

Mogensen H L, 1978. The effect of the pollen tube on synergid ultrastructure before and after penetration in *Proboscidea louisianica* (Mill.) Thell. *Bull Soc Bot Br*, **125:** 237

Mogensen H L, 1978. Pollen tube–synergid interactions in *Proboscidea louisianica* (Martineaceae). *Amer J Bot*, **65:** 953

Mogensen H L, Suthar H K, 1979. Ultrastructure of the egg apparatus of *Nicotiana tabacum* (Solanaceae) before and after fertilization. *Bot Gaz*, **140:** 168

Natesh S, Rau M A, 1984. The embryo. In: Embryology of Angiosperms. edited by B M Johri. Berlin: Springer–Verlag, 381

Smith B W, 1956. *Arachis hypogaea*, Embryogeny and the effect of peg elongation upon embryo and endosperm growth. *Amer J Bot*, 43: 233

Smith B W, 1956. *Arachis hypogaea*, Normal megasporogensis and syngamy with occational single fertilization. *Amer J Bot*, 43: 81

Willemse M T M, Van Went J L, 1984. The female gametophyte. In: Embryology of angiosperms. edited by B M Johri.

Berlin: Springer-Verlag, 159

Xi Xiang-yuan, 1991. Development and structure of pollen and embryo sac in peanut (*Arachis hyopogaea* L.). *Bot Gaz*, **152:** 164

You R L, Jensen W A, 1985. Ultrastructural observations of the mature megagametophyte and the fertilization in wheat (*Triticum aestiveum*). *Can J Bot*, **63:** 163

图 版 说 明

av 自体吞噬泡； CC 中央细胞； CW 细胞壁； DS 退化助细胞； EC 卵细胞； Er 内质网； FA 丝状器； G 高尔基体； L 脂滴； M 线粒体； N 核； P 质体； PN 极核； PS 宿存助细胞； S 淀粉粒； Sp 间隙； SY 助细胞； V 液泡； WI 壁内突； Z 合子

图版 I

1a. 成熟胚囊珠孔端，示一助细胞合点端仅有质膜（短箭号），此助细胞合点端通过质膜间断处与卵细胞合点端质膜和中央细胞质膜的间隙相通（大箭头），卵细胞与此助细胞间壁不连续，某些部位亦仅有质膜（小箭头）。1b. 卵细胞合点端质膜内陷成囊，示囊内质膜亦有间断（长箭号）。2. 成熟胚囊珠孔端，示另一助细胞合点端壁不连续，与卵细胞合点端质膜和中央细胞质膜之间的间隙无联系（小箭头）。3. 成熟胚囊珠孔端，示卵细胞合点端质膜与中央细胞质膜之间隙（Sp），此间隙与一助细胞合点端质膜间断处相通（大箭头），卵细胞与此助细胞间某些部位仅以质膜相邻（短箭号）。4. 图 3 中卵细胞部分放大，示卵细胞合点端质膜和中央细胞质膜间断（短箭号）。

图版 II

5. 受精后胚囊珠孔端，示合子早期合点端壁不连续（长箭号）与退化助细胞之间壁某些部位很薄或间断（小箭头）。短箭号示退化助细胞合点端壁不连续。6. 图 5 中合子部分放大，示细胞器。7. 合子晚期合点端部分放大，示小泡参与壁的形成（小箭头）。8a. 受精后胚囊珠孔端，示宿存助细胞与合子间壁不连续（短箭号）及细胞内的黑色颗粒状物（长箭号），小箭头示宿存助细胞部分合点端壁不连续。8b. 8a 中宿存助细胞丝状器部分放大，示周围的线粒体。

Explanation of Plates

av: Autophagic vacuole; CC: Central cell; CW: Cell wall; DS: degenerated synergid; EC: Egg cell; Er: Endoplasmic reticulum; FA: Filifom apparatus; G: Golgi body; L: Lipid body; M: Mitochondrium; N: nucleus; P: Plastid; PN: Polar nucleus; PS: Persistent synergid; S: Starch grains; Sp: Space; SY: Synergid; V: Vacuole; WI: Wall ingrowth; Z: Zygote.

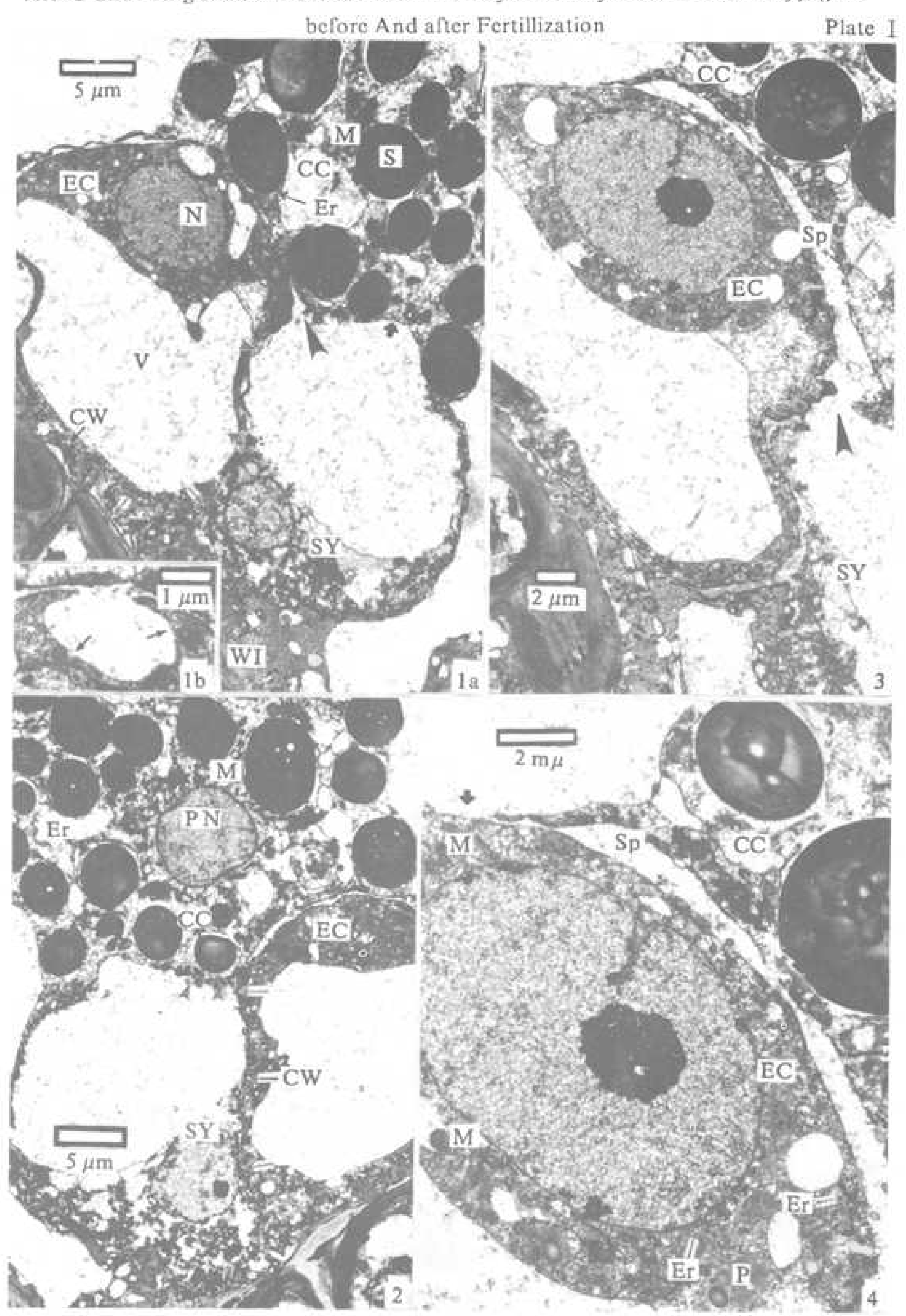
Plate I

1a. Micropylar end of the mature embryo sac, showing one synergid has no wall at its chalazal end (short arrow) and connects with the space between the two plasma membranes of the egg cell and central cell (big arrowhead), the egg cell has a discontinuous wall or only the plasma membranes in some places adjacent to this synergid (small errowheads). 1b. The plasma membrane of the egg cell at its chalazal end may sink in to form a sac, showing the discontinuous plasma membrane in the sac (long arrows). 2. Micropylar end of the mature embryo sac, showing another synergid has a discontinuous wall at its chalazal end and no connection with the space betwneen the two plasma membranes of the egg cell and central cell (small arrowheads). 3. Micropylar end of the mature embryo sac, showing the space between the two plasma membranes of the egg cell and central cell (Sp), one synergid connects with the space at its chalazal end (big arrowhead) and has only the plasma membranes ajjacent to the egg cell in some places (short arrows). 4. A part of the egg cell in fig. 3 is magnified, showing the discontinuous plasma membranes of the egg cell and central cell (short arrows).

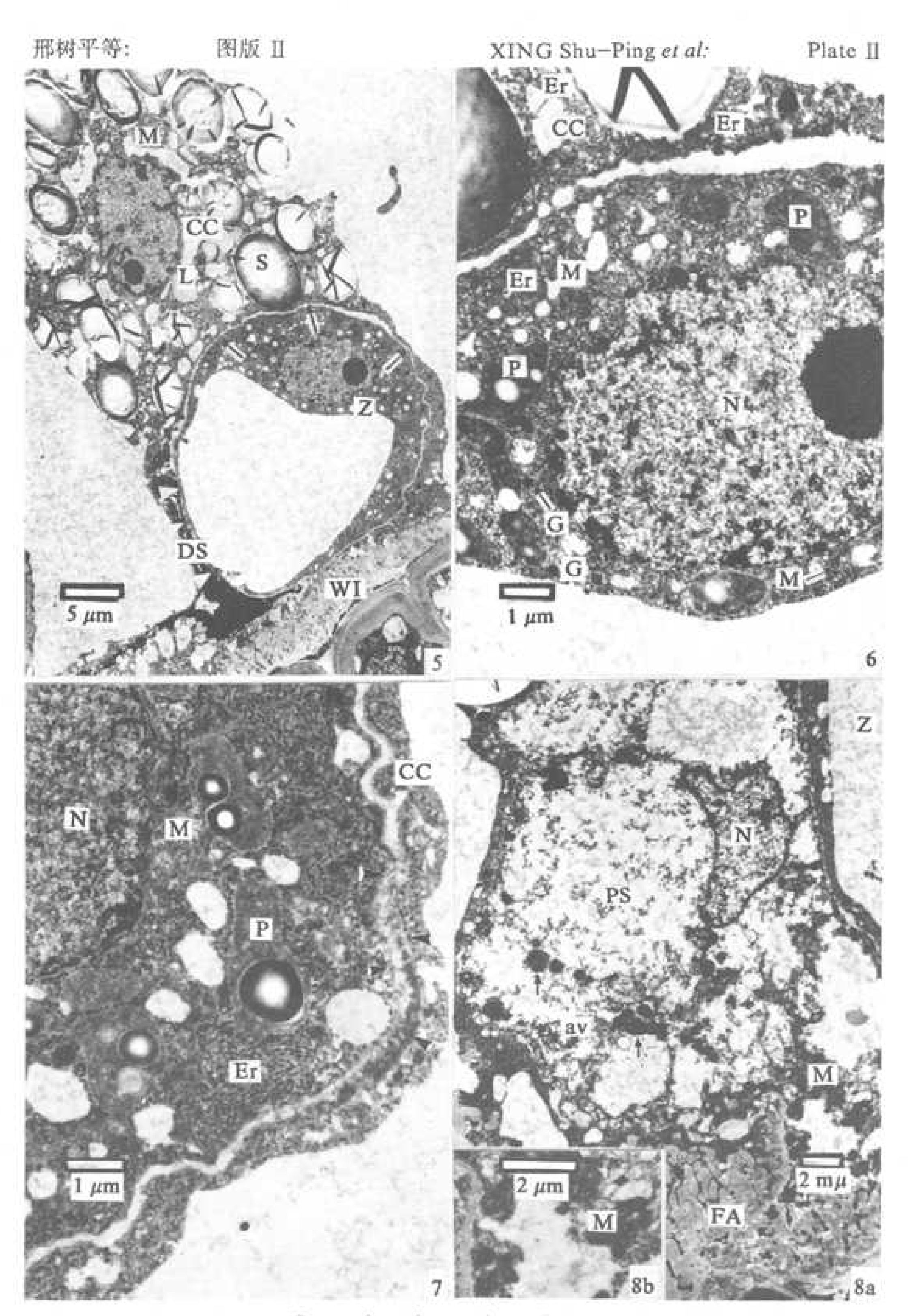
Plate II

5. Micropylar end of the embryo sac after fertilization, showing the zygote at early stage has no complete wall at its chalazal end (long arrows), and has a thin or a discontinuous wall adjacent to the degenerated synergid (small arrowheads), short arrow showing the discontinuous wall of the degenerated synergid at its chalazal end. 6. A part of the zygote in fig.5 is magnified, showing the organelles. 7. A part of the zygote at late stage, showing the vesicles participating in wall formation (small arrowheads). 8a. Micropylar end of the embryo sac after fertilization, showing the persistent synergid has a discontinuous wall adjacent to the zygote (short arrows), and some black particles (long arrows), small arrowheads showing the persistent synergid possesses a discontinuous wall at its chalazal end. 8b. The filiform apparatus of the persisitent synergid in fig. 8a is magnified, showing the mitochondria in the surrounding cytoplasm.

* * * * * * * * * *



See explanation at the end of text



See explanation at the end of text